

显微镜法复核血细胞分析仪计数血小板的重要意义

文进 夏存玉

作者单位:463000 驻马店市,解放军第 159 医院检验科

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2013.03.016

全自动五分类血细胞分析仪已被临床实验室广泛应用,用于血细胞分析仪检测的血液标本是以 EDTA-K₂ 为抗凝剂的抗凝标本。而因 EDTA-K₂ 的影响而导致 PLT 检出减少的现象,在临床上称为 EDTA 依赖性假性 PLT 减少。本文研究采用手工显微镜计数法和血涂片法对血细胞分析仪所计数 PLT 减低的标本进行复核,以探讨手工显微镜计数法和血涂片计数法复核血细胞分析仪计数 PLT 的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集我院 2011 年 5 月至 2012 年 5 月血液细胞分析仪计数 PLT 低于 50×10⁹/L 的住院患者的血液标本共 562 份,按 PLT 计数分为两组:1 组 PLT 为 (20~50)×10⁹/L,2 组为 PLT < 20×10⁹/L,标本采集均用 EDTA-K₂ 抗凝。

1.2 仪器和试剂 希森美康 Sysmex-2100 血细胞分析仪及配套试剂;稀释液中含 0.2 g/L 的 EDTA-K₂;湖南安信医用高分子材料有限公司生产 EDTA-K₂ 真空管。

1.3 室内质控 使用希森美康全血质控物,所有检测结果临床可接受性以 CLIA'88 对室内质评总误差的 1/3 作为判断标准。

1.4 方法 按照《临床检验基础》第四版和《全国临床检验操作规程》第三版的要求对 PLT < 300×10⁹/L 的标本均进行手工显微镜计数和血涂片法复检;手工显微镜 PLT 计数采用草酸铵稀释液,实验操作严格按《全国临床检验操作规程》第三版的要求进行;血涂片法:将血液标本推片,晾干后进行瑞氏染色,油镜下阅片。血涂片法 PLT 计数公式如下

$$\text{血涂片法 PLT 计数} = \frac{\text{涂片计数 PLT} \times \text{血液细胞分析仪白细胞数}}{\text{涂片计数 PLT 时所见白细胞数}} \quad (\times 10^9/\text{L})$$

1.5 PLT 假性减少的诊断标准 PLT 低于 50×10⁹/L,多为显著性减少,同时无浅表皮肤及黏膜出血;涂片染色后用油镜阅片检查,PLT 聚集成堆,诊断为 PLT 假性减少(标本采集不正确发生的聚集除外)。

2 结果

2.1 3 种血小板计数方法的结果比较 排除 9 例 PLT 假性减少后,余下的 553 例血液细胞分析仪显示 PLT 计数减少时,3 种计数方法按照 PLT 的结果不同分为 (20~50)×10⁹/L

和 < 20×10⁹/L 两组,同时进行仪器计数、手工计数、涂片法计数,三种方法结果及比较见表 1。从表中可以看出,PLT < 20×10⁹/L 组,三种计数方法结果差异有统计学意义 ($P < 0.05$),仪器计数法明显低于手工计数和涂片计数,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05);而当 PLT = (20~50)×10⁹/L,三种计数方法结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 553 例 PLT 减少患者 3 种 PLT 计数方法的比较 ($\bar{x} \pm s, \times 10^9/\text{L}$)

PLT	例数	仪器计数	手工计数	涂片	F 值	P 值
20~50	362	38.05±6.38	41.53±12.34	39.89±9.20	0.30	> 0.05
< 20	191	13.24±2.63	17.58±4.42	18.69±5.19	3.36	< 0.05

2.2 9 例 PLT 假性减少患者 2 种计数方法的计数结果 9 例 PLT 假性减少患者中,手工计数结果均明显高于仪器计数。而涂片法计数中,因 1~8 号标本 PLT 聚集成堆,9 号标本 PLT 黏附在中性粒细胞周围而无法进行计数。见表 2。

表 2 9 例 PLT 假性减少 2 种计数方法的计数结果 ($\times 10^9/\text{L}$)

标本编号	仪器计数	手工计数
1	9	135
2	11	245
3	12	189
4	12	163
5	14	227
6	15	231
7	16	172
8	18	219
9	19	193

3 讨论

2005 年国际血液学组织提出了显微镜复检的 41 条建议性标准,得到中国血液检验学界的密切关注。国际血液学专家组制定了复检的规则和标准:复检内容包括对标本的复查、检验者对仪器报告的复核、涂片镜检人工分类、标本的确认、仪器运行状态的检查等^[1]。本研究参考“41 条”和国内血液学复检专家组推荐的全自动全血细胞计数复检规则^[2],对 PLT 计数异常者,运用显微镜手工计数法和涂片法两种方法结合,进行复检。

表 1 结果显示,3 种方法在 $PLT > 20 \times 10^9/L$ 时,计数结果差异不大;在 $PLT < 20 \times 10^9/L$ 时,血涂片法和手工显微镜法几乎无差异,而血细胞分析仪法与血涂片法和手工计数法的差异较大。陈军浩等^[3]认为,对于 $PLT < 20 \times 10^9/L$ 的标本,仪器法可信度较差,应以手工计数法复检,以保证其结果的准确性。

血涂片法与手工显微镜计数法比较,其优点是可以准确识别 PLT 的形态,排除细胞碎片或杂物等可疑物质使 PLT 计数假性增高的影响,还可以避免异常 PLT 漏检。由于 PLT 有黏附、聚集的特性,PLT 数量较多时易聚集成堆,所以本文仅对 $PLT < 50 \times 10^9/L$ 的标本进行血涂片计数,同时观察 PLT 的形态和聚集性。

表 2 结果显示,我院在 1 年中共发现 9 例 PLT 假性减少患者,虽然临床发生率低,但极易造成误诊。一旦误诊,对于急需手术治疗的患者会延误病情,另一方面还会给患者造成不必要的经济损失,极易引起医疗纠纷。在这 9 例 PLT 假性减少的患者中,制备血涂片和瑞氏染色后显微镜下观察,其中 8 例可见簇状聚集的 PLT,且每油镜视野 PLT 数目在 10~20 个之间,另 1 例有 PLT 卫星现象,显然与血细胞分析仪 PLT 计数减少不符,再通过显微镜法进行手工 PLT 计数,9 例 PLT 数量均在正常范围,进一步证实了此 9 例 PLT 假性减少是由于 EDTA-K₂ 抗凝剂导致 PLT 聚集成堆,而引起的 PLT 假性减少,临床上称为 EDTA 依赖性假性 PLT 减少^[4]。相关报道^[5]表明,依赖性假性 PLT 减少症的发生率为 0.07%~0.20%。

另一种现象是 PLT 黏附于白细胞上的“PLT 卫星现象”,这是由于白细胞表面的 IgG 或 Fc 段与血小板表面的 GP II b/III a 结合所致。

PLT 假性减少多见于成年人,女性较男性多见,患者多有原发性疾病,但也可见于健康体检者和刚出生的婴幼儿^[6]。据报道^[7],PLT 假性减少常见于有自身免疫性疾病、肿瘤、肝脏

疾病、感染性疾病及其他一些不明原因的疾病。这种现象是其他疾病发生的伴随现象,出现于其他疾病开始或治疗过程中,会随着疾病的好转而消失。还有报道^[8]使用某些药物如抗生素等也可诱导 PLT 假性减少。

血涂片法计数 PLT 能够真实反映 PLT 的形态,并可及早发现 PLT 数量的假性减少,再联合应用手工显微镜计数法,是对血细胞分析仪计数 PLT 很好的补充,在发现和初步纠正 PLT 计数假性降低方面有明显意义。

4 参考文献

- 1 熊立凡,刘成玉,主编.临床检验基础.北京:人民卫生出版社,2007,8:112-114.
- 2 乐家新,丛玉隆,王海,等. Sysmex XE-2100 血细胞分析仪血涂片复检规则的应用研究.现代检验医学杂志,2010,25:30-36.
- 3 陈军浩,王以立,顾光煜.血小板计数仪器法与手工法测定低血小板样品的评价.临床检验杂志,1997,15:364-365.
- 4 周小棉,邹晓.假性血小板减少症研究进展.中华检验医学杂志,2007,30:1065-1068.
- 5 Chiurazzi F, Villa MR, Rotoli B. Transplacental transmission of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Haematological,1999,84:664-665.
- 6 Satoh M, Hirose Y, Gamo M, et al. Sudden onset of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient scheduled for open heart surgery. Masui,2003,52:402-405.
- 7 邢辉,吴建民. EDTA-K3 依赖性血小板假性减少症分析.临床检验杂志,2004,22:277-279.
- 8 Kinoshita Y, Yamane T, Kamimoto A, et al. A case of pseudothrombocytopenia during antibiotic administration. Rinsho Byori,2004,52:120-123.

(收稿日期:2013-01-07)

(本文编辑:李霖)

(上接第 163 页)

- 15 马庆海,杨文东. 2 型糖尿病合并冠心病与 Leptin 及 IL-6,CRP 的相关性.国际检验医学杂志,2009,30:1209-1210.
- 16 刘晓柳,李光千. 白介素-6 及其受体与心血管系统的研究进展.细胞与分子免疫学杂志,2009,25:189-191.

- 17 吕磊,徐军. 白细胞介素-6 在心血管疾病中作用研究的进展.心血管康复医学杂志,2009,18:510-512.
- 18 Kanda T, Takahashi T. Intedukin-6 and cardiovascular diseases. Jpn Heart J,2004,45:93-183.

(收稿日期:2013-07-10)

(本文编辑:陈淑莲)